



بررسی تاثیر محافظتی تجویز همزمان ملاتونین و ویتامین E بر پارامتر های تولید مثلی در موش صحرایی نر

Study on the protective effects of co-administration of melatonin with vitamin E on the reproductive parameter in male rats



علوم پزشکی قزوین



منابع



اطلاعات تفصیلی



مجری و همکاران



صفحه نخست سامانه

چاپ صفحه

مجریان: سید محمد علی حسینی ، زهرا زرمحمدی ، جواد شهبازی ، احسان عالی

کلمات کلیدی: ناباروری-مردان-موش صحرایی نر-ملاتونین-ویتامین E-بوسولفان



اطلاعات کلی طرح

کد طرح	۱۴۰۰۲۰۰۳
عنوان فارسی طرح	بررسی تاثیر محافظتی تجویز همزمان ملاتونین و ویتامین E بر پارامتر های تولید مثلی در موش صحرایی نر
عنوان لاتین طرح	Study on the protective effects of co-administration of melatonin with vitamin E on the reproductive parameter in male rats
کلمات کلیدی	ناباروری-مردان-موش صحرایی نر-ملاتونین-ویتامین E-بوسولفان
نوع طرح	
نوع مطالعه	
مدت اجراء - روز	۳۶۵
ضرورت انجام تحقیق	تعداد اسپرمها در مردان امروزی به مراتب کمتر از تعداد اسپرم مردانی است که ۵۰ سال گذشته زندگی میکردند . به همین دلیل ناباروری

مردان یکی از معضلات جوامع بشری امروزی و بخصوص افرادی است که در جوامع صنعتی زندگی می کنند. امروزه از مواد آنتی اکسیدان و محافظت کننده برای پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری ها استفاده میشود. در تحقیق حاضر به بررسی تاثیر تجویز ترکیب دو داروی ملاتونین و ویتامین E و مقایسه آن با اثرات این داروها به تنهایی، ال کارنیتین و نیز ترکیب ال کارنیتین و ملاتونین در فاکتورهای ناباروری، در مدل ناباروی القاء شده با داروی بوسولفان در موش صحرایی نر، پرداخته خواهد شد.

هدف کلی	تعیین اثرات سینرژیستی ملاتونین و ویتامین E بر پارامتر های تولید مثلی در موش صحرایی نر.
خلاصه روش کار	چهل سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار در پنج گروه هشت تایی تقسیم میشوند. گروه های آزمایش با داروی بوسولفان نابارور شده و به مدت ۴۰ روز تحت درمان با ملاتونین و ویتامین E قرار میگیرند. پس از اتمام این مدت از موش ها نمونه خون تهیه شده و سپس برای آزمایشات بافتی موش ها کشتار میشوند و موارد ذیل در آنها بررسی میشود. اندازه گیری هورمون -جمع آوری اسپرم-ارزیابی پارامترهای مربوط به اسپرم-وزن بیضه/ وزن بدن-ارزیابی هیستولوژی و پاتولوژی بافت بیضه

اطلاعات مجری و همکاران

نام و نام خانوادگی	سمت در طرح	نوع همکاری	درجه تحصیلی	پست الکترونیک
سید محمد علی حسینی	مجری	اجراء طرح	دکترای حرفه ای	smahoseini@gmail.com
زهرا زرمحمدی	مجری	اجراء طرح	کارشناسی	zzarmohamadi@gmail.com
جواد شهبازی	مجری	اجراء طرح	کارشناسی	jvshahbazi@gmail.com
احسان عالی	استاد راهنمای اول	استاد راهنما	دکتر - PHD	en.aali@gmail.com

اطلاعات تفصیلی

عنوان	متن
چکیده طرح	هدف: بررسی تاثیر محافظتی تجویز همزمان ملاتونین و ویتامین E بر پارامتر های تولید مثلی در موش صحرایی نر. مواد و روش ها: در این تحقیق از ۴۰ سر موش صحرایی نر استفاده خواهد شد که به پنج گروه ۸ تایی تقسیم میشوند. گروه کنترل حلال بوسولفان و گروه های بعدی داروی بوسولفان را برای ایجاد آسیب به بافت تولید مثلی موش دریافت خواهند کرد. سپس به گروه اول تحت درمان ۲۰۰mg ویتامین E به صورت ip، گروه دوم ۱mg ملاتونین ip، و گروه سوم ترکیب این دو دارو را به مدت ۴۰ روز دریافت خواهند کرد. در آخر تاثیرات این دو دارو به صورت تنها و استفاده همراه با هم به روی پارامتر های تولید مثلی موش های صحرایی نر بررسی خواهد شد.
پیشینه طرح	
فهرست کلی فصول	

هدف از اجرا	تعیین اثرات سینرژیستی ملاتونین و ویتامین E بر پارامتر های تولید مثلی در موش صحرایی نر.
فرضیات یا سوالات پژوهشی	ترکیب داروهای ملاتونین و ویتامین E باعث بهبود اسپرماتوژنز موشهای تحت درمان در مقایسه با گروه کنترل می گردد. ترکیب داروهای ملاتونین و ویتامین E باعث بهبود اسپرماتوژنز در موشهای تحت درمان در مقایسه با گروه دریافت کننده ویتامین E و ملاتونین به تنهایی می گردد. ترکیب داروهای ملاتونین و ویتامین E باعث کاهش میزان مرگ برنامه ریزی شده سلولها در موشهای تحت درمان در مقایسه با گروه کنترل می گردد. ترکیب داروهای ملاتونین و ویتامین E باعث کاهش میزان مرگ برنامه ریزی شده سلولها در موشهای تحت درمان در مقایسه با گروه دریافت کننده ویتامین E و ملاتونین به تنهایی می گردد. ترکیب داروهای ملاتونین و ویتامین E باعث بهبود ضایعات بافتی ناشی از بوسولفان در موشهای تحت درمان در مقایسه با گروه دریافت کننده ویتامین E و ملاتونین به تنهایی می گردد. ترکیب داروهای ملاتونین و ویتامین E باعث بهبود ضایعات بافتی ناشی از بوسولفان در موشهای تحت درمان می گردد.
چه موسساتی می توانند از نتایج طرح استفاده نمایند؟	موسسات و شرکت های تحقیقاتی و داروسازی
در صورت ساخت دستگاه نظر صنعت و داوران	
کلید واژه های فارسی	ملاتونین-ویتامین E-موش صحرایی ویستار-ناباروری مردان-بوسولفان
روش پژوهش و تکنیک های اجرایی	در این پژوهش، ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد Wistar با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم و سن تقریبی ۳-۲ ماه به صورت تصادفی در پنج گروه، هر گروه شامل هشت سر موش، تقسیم خواهند شد. گروه کنترل؛ دوز واحد از DMSO (حلال بوسولفان) دریافت خواهد نمود. گروه شاهد؛ دوز واحد از داروی بوسولفان (۱۰ mg/kg) جهت ایجاد آسیب به بافت تولید مثلی دریافت خواهند نمود. گروه سوم: (۱۰ mg/kg) بوسولفان دریافت خواهند کرد. گروههای تحت درمان؛ همزمان با تجویز بوسولفان، گروههای تحت درمان به ترتیب ملاتونین (۱۰ mg/kg, ip)، ویتامین E (۲۰۰ mg/kg, ip) و ترکیب ملاتونین (۱۰ mg/kg, ip) - ویتامین E (۲۰۰ mg/kg, ip) به مدت ۸ هفته دریافت خواهند نمود. پس از گذشت ۸ هفته، حیوانات بیهوش شده و نمونه خون آنها گرفته خواهد شد و سپس کشتار خواهند شد. اندازه گیری هورمون: بعد از پایان هفته هشتم، خون حیوانات جمع آوری خواهد شد و میزان تستوسترون خون حیوانات به روش رادیو ایمنو اسی (RDA) اندازه گیری خواهد شد. همچنین سطح سرمی LH و FSH نیز توسط کیت الایزایی مخصوص اندازه گیری خواهد شد. جمع آوری اسپرم: پس از کشتار حیوانات، به منظور ارزیابی پارمترهای مربوط به اسپرم، اپیدیدیم خلفی جدا شده و در ۱ میلی لیتر محلول HTF حاوی ۴ mg/kg آلبومین سرم گاوی به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط ۳۷°C و رطوبت ۵ درصد انکوبه خواهد شد. سپس سوسپانسیون اسپرم با دور ۱۰۰۰ rpm سانتیفریوژ می گردد و مایع رویی حاوی اسپرم جدا خواهد شد. ارزیابی پارمترهای مربوط به اسپرم: به منظور بررسی تاثیر دارو ها بر میزان ناباروری موش های نر، پارمترهای مربوط به اسپرم از جمله مورفولوژی، شمارش اسپرم، تحرک اسپرم، تعداد اسپرم زنده مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت: مورفولوژی اسپرم: برای تعیین مورفولوژی اسپرم، ۱۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون اسپرم بر روی لام قرار داده شده، سپس به آن ۱۰ میکرو لیتر محلول گیمسا افزوده شده و پس از تهیه اسمیر از نظر مورفولوژی مورد بررسی قرار خواهند گرفت. شمارش اسپرم: جهت شمارش اسپرم، ۱۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون اسپرم با لام نئوبار (Neubauerhemocytometer) مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت. تحرک اسپرم: جهت اندازه گیری میزان تحرک اسپرم، ۱۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون اسپرم بر روی لام قرار داده و زیر میکروسکوپ نوری مشاهده خواهد شد. حرکت اسپرم ها بر اساس ۴ الگوی زیر طبقه بندی و امتیاز بندی می گردد: حرکت سریع رو به جلو، حرکت کند رو به جلو، حرکت درجا (دورانی) و فاقد حرکت. درصد اسپرم زنده: تعیین میزان اسپرم زنده به شرح زیر صورت می گیرد.

۲۰ میکرولیتر از رنگ Eosin Y- Nigroson به حجم مساوی سوسپانسیون اسپرم اضافه شده و پس از انکوباسیون در دمای اتاق، در زیر میکروسکوپ نوری مشاهده خواهد شد. تفاوت رنگ اسپرم های زنده و مرده ملاک ارزیابی خواهد بود. وزن بیضه/ وزن بدن: به منظور بررسی تاثیر داروهای مصرفی در پارامتر وزن بدن و بیضه حیوانات، در پایان مطالعه وزن بدن حیوانات، وزن بیضه و نسبت وزن بیضه به وزن کل بدن ارزیابی خواهد شد. ارزیابی هیستولوژی و پاتولوژی بافت بیضه: به منظور ارزیابی هیستولوژی و پاتولوژی بافت بیضه، از هر گروه ۴۰ مقطع عرضی از بافت بیضه مورد بررسی میکروسکوپی قرار خواهد گرفت.

دلایل ضرورت و توجیه انجام کار
در جوامع جدید مشکل ناباروری مردان از جمله مشکلات مهم به شمار می آید در این مطالعه در صورت موثر واقع شدن دارو ها میتوانیم آن را به عنوان یک داروی موثر و کاربردی معرفی کنیم

کلید واژه های فارسی بازنگری شده

۴. تهورگر، هورمون ملاتونین، سوخت و ساز و اثرات بالینی آن. غدد درون ریز و متابولیسم ایران. ۱۳۹۲؛ ۱۵(۲): ۲۱۱-۲۳. ۱۴. Sara Soleimani Rad SA, Amir Ghorbani Haghjo, Mehzaad Sadagheyani, Azadeh Montaseri, Jafar Soleimani Rad. Serum Levels of Melatonin and Oxidative Stress Markers and Correlation between Them in Infertile Men. Journal of Caring Sciences. ۲۰۱۳؛ ۲(۴): ۲۸۷-۲۹۴. ۱۹. Mohamadghasemi F FM, Khajehjahromi S, Bahadori M Nasiri E. Hemadi M. Effect of Melatonin on proliferative activity and apoptosis in spermatogenic cells in mouse under chemotherapy. Journal of Reproduction & Contraception. ۲۰۱۰؛ ۲۱(۲): ۷۹-۹۴. ۲۳. Nouri M, Ghasemzadeh A, Farzadi L, Shahnazi V, et al. Vitamins C, E and lipid peroxidation levels in sperm and seminal plasma of asthenoteratozoospermic and normozoospermic men. Iranian J Reproductive Medicine. ۲۰۰۸؛ ۶: ۱-۵

فهرست منابع و مراجع علمی داخلی

۱. Fisch H. Declining worldwide sperm count: disproviding a myth. Urol Clin North Am. ۲۰۰۸؛ ۳۵: ۱۳۷-۱۴۶. ۲. M. Mila Macchia JNB. Human pineal physiology and functional signiWcance of melatonin. Frontiers in Neuroendocrinology ۲۰۰۴؛ ۲۵: ۱۷۷-۹۵. ۳. Bruno Claustrat JB, Guy Chazot. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. Sleep Medicine Reviews ۲۰۰۵: ۲۴-۹-۱۱. ۵. ۴. Reiter R. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. Endocr Rev ۱۹۹۱؛ ۱۲: ۱۵۱. ۶. Duell PB WD, Shultz A, Nguyen H., Inhibition of LDL oxidation by melatonin requires supraphysiologic concentrations. Clinical Chemistry ۱۹۹۸؛ ۴۴: ۱۹۳۱-۶. ۷. Wang JZ WZR. ole of melatonin in Alzheimerlike neurodegeneration. Acta Pharmacol Sin ۲۰۰۶؛ ۲۷: ۴۱-۹. ۸. Monisha Sharma YKG. Effect of chronic treatment of melatonin on learning, memory and oxidative deficiencies induced by intracerebroventricular streptozotocin in rats. Pharmacology, Biochemistry and Behavior. ۲۰۰۱؛ ۷۰: ۳۲۵-۳۱. ۹. Russel J. Reiter D-xT, Juan C. Mayo. Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans. Acta Biochimica Polonica. ۲۰۰۳؛ ۵۰: ۱۱۲۹-۴۶. ۱۰. Czesnikiewicz-Guzik M KS, Loster B, Wisniewska G, Majewski S. Melatonin and its role in oxidative stress related diseases of oral cavity.

فهرست منابع و مراجع علمی خارجی

J Physiol Pharmacol. ۲۰۰۷;۵۸ (۳): ۵-۱۹. ۱۱. Rodriguez C MJ, Sainz RM, Antolín I, Herrera F, Martín V. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. J Pineal Res ۲۰۰۴;۳۶: ۱- ۹. ۱۲. Ravindra T LN, Ahuja YR. Melatonin in pathogenesis and therapy of cancer. Indian J Med Sci ۲۰۰۶;۶۰:۵۲۳-۳۵. ۱۳. Chucharoen P CB, Putthaprasart C et al.

The presence of melatonin receptors and inhibitory effect of melatonin on hydrogen peroxide-induced endothelial nitric oxide synthase expression in bovine cerebral blood vessels. J Pineal Res ۲۰۰۷;۴۳:۳۵-۴۱. ۱۵. Srinivasan V SW, Pandi-Perumal SR, Zakharia R, Bhatnagar KP, Brzezinski A. Melatonin and human reproduction: shedding light on the darkness hormone. Gynecol Endocrinol ۲۰۰۹; ۲۵(۱۲):۷۷۹-۸۵. ۱۶. Gavella M LV. Antioxidative effect of melatonin on human spermatozoa. Arch Androl ۲۰۰۰;۴۴(۱):۲۳-۷. ۱۷. Plessis S HK, Lampiao F. The in vitro effects of melatonin on human sperm function and its scavenging activities on NO and ROS. Andrologia ۲۰۱۰;۴۲:۱۱۲-۱۶. ۱۸. Ateşşahin A SE, Türk G, Ceribaşı AO, Yilmaz S, Yüce A. Chemoprotective effect of melatonin against cisplatin-induced testicular toxicity in rats. J Pineal Res ۲۰۰۶;۴۱(۱):۲۱- ۷. ۲۰. Gitto E TD, Reiter RJ, Karbownik M, Manchester LC, Cuzzocrea S, Fulia F, Barberi I. Individual and synergistic antioxidative actions of melatonin: studies with vitamin E, vitamin C, glutathione and desferrioxamine (desferoxamine) in rat liver homogenates. J Pharm Pharmacol. ۲۰۰۱ ۵۳(۱۰):۱۳۹۳-۴۰۱. ۲۱. Gurel A, Coskun O, Armutcu F, Kanter M, et al. Vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in frontal cortex and hippocampus: biochemical and histological studies. J Chem Neuroanat. ۲۰۰۵; ۲۹: ۱۷۳-۱۷۸. ۲۲. Chandra AK, Chatterjee A, Ghosh R, Sarkar M. Vitamin E-supplementation protect chromium (VI)-induced spermatogenic and steroidogenic disorders in testicular tissues of rats. Food Chem Toxicol. ۲۰۱۰; ۴۸: ۹۷۲-۹۷۹. ۲۴. Latchoumycandane C, Mathur PP. Effects of vitamin E on reactive oxygen species-mediated ۲,۳,۷,۸-tetrachlorodi-benzo-p-dioxin toxicity in rat testis. J Appl Toxicol. ۲۰۰۲; ۲۲: ۳۴۵-۳۵۱. ۲۵. Yue D, Yan L, Luo H, Xu X, et al. Effect of Vitamin E supplementation on semen quality and the testicular cell membranal and mitochondrial antioxidant abilities in Aohan fine-wool sheep. Anim Reprod Sci. ۲۰۱۰; ۲۱۸: ۲۲۲-۲۱۷.

خلاصه نتیجه اجرای طرح

سابقه علمی طرح و پژوهش‌های انجام شده با ذکر مأخذ به ویژه در ایران

خلاصه طرح طبق اهداف پیش بینی شده

WhatRequirementsAreMet

ملاحظات گروه	
ملاحظات ناظر	
HomeAddress	
WorkPlace	
<p>مطالعات نشان میدهد که تعداد اسپرمها در مردان امروزی به مراتب کمتر از تعداد اسپرم مردانی است که ۵۰ سال گذشته زندگی میکردند (۱). به همین دلیل ناباروری مردان یکی از معضلات جوامع بشری امروزی و بخصوص افرادی است که در جوامع صنعتی زندگی می کنند. ملاتونین (N استیل متوکسی تریپتامین) هورمون مترشحه از غده صنوبری (پینه آل) می باشد که بصورت ریتم سیرکادین ترشح می گردد. ملاتونین از اسید آمینه تریپتوفان ساخته می شود و پس از تبدیل شدن به سروتونین طی دو مرحله تبدیل به ملاتونین می گردد. بنابراین ساخت این هورمون نیازمند در دسترس بودن اسید آمینه تریپتوفان در بدن می باشد. فاکتورهای تغذیه ای از جمله فولات، ویتامین B۶ و کوآنزیم در تحریک تولید ملاتونین دخیل هستند (۲، ۳). ملاتونین توسط غده پینه آل، شبکیه، دستگاه گوارش، مغز استخوان و ... تولید و توسط غده پینه آل ترشح می گردد. ترشح ملاتونین ممکن است در طی روزهای مختلف و بر حسب شرایط فیزیولوژیک تغییر پیدا کند. بیشترین میزان ترشح هورمون در هنگام شب و در تاریکی کامل رخ می دهد (۲). در واقع ملاتونین مسول تنظیم ساعت بیولوژیک از زمان جنین تا دوران پیری می باشد. غلظت ملاتونین در خون متغیر بوده بطوریکه غلظت آن در طول شبانه روز بین ۱۰ تا ۶۰ پیکوگرم متغیر می باشد. حداکثر میزان ترشح ملاتونین در طول شب و حداقل ترشح آن در طی روز می باشد. بعد از اواسط تاریکی، ملاتونین به سرعت بالا رفته و به یک اوج کوتاه مدت میرسد و بعد از آن، پیش از شروع روشنایی کاهش می یابد تا به مقدار روزانه برگردد. نور مصنوعی با شدت ۲۵۰۰-۲۰۰ لوکس نوری می تواند باعث سرکوب کامل ترشح ملاتونین گردد (۳). از آنجاییکه این هورمون در غده پینه آل ذخیره نمی گردد، بنابراین پروفایل پلاسمایی هورمون بیانگر فعالیت غده پینه آل می باشد. سیکل روشن/خاموش مهمترین سیستم تنظیمی ترشح ملاتونین می باشد. ساخت ملاتونین تحت تاثیر سن، جنس، فصل و برخی بیماریها متغیر می باشد و با افزایش سن تولید آن کاهش می یابد. میزان این هورمون در زنان سالمند بیشتر از مردان سالمند است. همچنین میزان ساخت آن در انسان در فصل زمستان بیشتر از تابستان می باشد. ملاتونین در بدن دارای عملکرد گسترده می باشد. این هورمون به عنوان یک عامل محافظتی در برابر بیماریهای مزمن و تحلیل برنده، بیماریهای گوارشی و اختلالات متابولیکی و رفتاری عمل می نماید و در برخی موارد مصرف آن سبب بهبود برخی شرایط بیماری زایی می گردد. در دستگاه گوارش افزایش جریان خون موکوس، کاهش حرکات دودی، پیشگیری از التهاب و زخم های گوارشی از اعمال دیگر این هورمون می باشد (۳، ۴). ملاتونین به طور مستقیم فعالیت تخمدانی را نیز کنترل می نماید. به علاوه موجب تحریک سنتر پروژسترون می گردد. غلظت بالاتر از حد طبیعی ملاتونین می تواند اختلال عملکرد سیستم تولیدمثلی ایجاد کند. اختلالات سیستم تولیدمثلی عبارتند از: تغییر چرخه ی عادت ماهانه، فقدان اسپرم در مردان، تاخیر در بلوغ و یا بلوغ زودرس (۴، ۵). نقش ملاتونین در تنظیم دمای بدن در طی شب نیز شناخته شده است. همچنین بر اساس بررسی های انجام شده ملاتونین سبب کاهش خطر ابتلا به بیماری آترواسکلروز می شود (۳، ۶). در بیماران مبتلا به آلزایمر، مصرف مکمل ملاتونین سبب کاهش حواس پرتی و بهبود حافظه ی آن ها می شود (۷، ۸). حذف رادیکالهای آزاد و اثرات آنتی اکسیدانی و نیز بهبود سیستم ایمنی، از دیگر اثرات عمومی ملاتونین می باشد. نقش ملاتونین به عنوان یک آنتی اکسیدان بسیار مؤثر و خنثی کننده رادیکالهای آزاد به اثبات رسیده است (۹). برخی مطالعات نشان داده اند که ملاتونین قوی تر از ویتامین E، مانیتول، گلوکاتیون برای پاک سازی رادیکالهای آزاد ناشی از اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع است. تجربه نشان داده تزریق ملاتونین در حیوانات مبتلا به ایسکمی سطح MDA (شاخص آسیب استرس اکسیداتیو) را کاهش می دهد. ملاتونین محرک آنزیمهای آنتی اکسیدانی شامل سوپراکسیداز، گلوکاتیون پراکسیداز، گلوکاتیون ردوکتاز و کاتالاز</p>	<p>جامعه مورد مطالعه و روش نمونه گیری</p>

است و نیز مهارکننده ی لیپواکسیژناز می باشد (۱۰، ۱۱). ملاتونین با تثبیت غشاهای میکروزمی، سبب مقاومت در برابر آسیب اکسیداسیونی میشود. بعلاوه جهش ناشی از اشعه X را نیز مهار می نماید (۱۲). خاصیت ایمونومودولاتوری ملاتونین ناشی از مهار COX-۲ و iNOS در سلولهای التهابی می باشد (۱۳). اثرات آنتی آپوپتوتیک ملاتونین بر روی بافت های مختلف در مطالعات مختلف نشان داده شده است. علاوه بر نقش آنتی اکسیدانی و محافظتی این هورمون بر روی بافت تولید مثلی، ملاتونین همچنین در تنظیم ترشح هورمون های جنسی ایفای نقش می نماید (۱۴، ۱۵). تحقیقات نشان داده اند که ملاتونین مانع تولید انواع گونه های فعال اکسیژن و همچنین مانع فرایند لیپید پراکسیداسیون غشای اسپرم شده و بنابراین فاکتورهای مربوط به اسپرم را بهبود می بخشد (۱۶، ۱۷). ملاتونین با خواص آنتی اکسیدانی و آنتی آپوپتوتیک خود (از طریق مهار روند آپوپتوز سلول های زایا) مانع تخریب اسپرماتوژنز شده است (۱۸، ۱۹). استفاده همزمان از ملاتونین و آنتی اکسیدانهای قوی مانند ویتامین E، ویتامین C، گلوکاتیون و ... در مطالعات مختلف صورت پذیرفته است. در مطالعه صورت گرفته توسط Gitto و همکاران، اثرات سینرژیستی محافظتی ملاتونین و دیگر آنتی اکسیدانها در پیشگیری از پراکسیداسیون لیپید ناشی از آهن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که اثرات محافظتی ترکیب ملاتونین به همراه ویتامین C، E و گلوکاتیون نسبت به تجویز این ترکیبات به تنهایی بطور معنی داری بیشتر بود (۲۰). ویتامین E (توکوفرول) یک آنتی اکسیدانت غیرآزمی قوی محسوب میشود که قادر است واکنش پراکسیداسیون لیپید را در غشاهای سلولی بوسیله محدود نمودن عمل رادیکالهای آزاد مهار و بدین ترتیب غشاهای سلولی را از آسیب القا شده بوسیله آنها محافظت نماید (۲۱). در دستگاه تناسلی نر، نقش آنتی اکسیدانتی این ویتامین در مهار نمودن اثرات مخرب رادیکالهای آزاد در بیضه (۲۲) و اسپرم (۲۳ و ۲۴) گزارش شده است. علاوه بر این، ویتامین E با قابلیت ذکر شده قادر است سیستم دفاعی آنتی اکسیدانتی سلولهای بیضه و اسپرم را تقویت نماید (۲۵). با توجه به نقش ویتامین E بعنوان یک آنتی اکسیدانت قوی این طور میتوان فرض کرد که این ویتامین قادر باشد اثرات مخرب رادیکال های آزاد را خنثی نماید. در تحقیق حاضر به بررسی تاثیر تجویز ترکیب دو داروی ملاتونین و ویتامین E و مقایسه آن با اثرات این داروها به تنهایی، ال کارنیتین و نیز ترکیب ال کارنیتین و ملاتونین در فاکتورهای ناباروری، در مدل ناباروی القاء شده با داروی بوسولفان در موش صحرایی نر، پرداخته خواهد شد.

بیان مسأله و بررسی متون

مطالعات نشان میدهد که تعداد اسپرمها در مردان امروزی به مراتب کمتر از تعداد اسپرم مردانی است که ۵۰ سال گذشته زندگی میکردند (۱). به همین دلیل ناباروری مردان یکی از معضلات جوامع بشری امروزی و بخصوص افرادی است که در جوامع صنعتی زندگی می کنند. ملاتونین (N استیل متوکسی تریپتامین) هورمون مترشح از غده صنوبری (پینه آل) می باشد که بصورت ریتم سیرکادین ترشح می گردد. ملاتونین از اسید آمینه تریپتوفان ساخته می شود و پس از تبدیل شدن به سروتونین طی دو مرحله تبدیل به ملاتونین می گردد. بنابراین ساخت این هورمون نیازمند در دسترس بودن اسید آمینه تریپتوفان در بدن می باشد. فاکتورهای تغذیه ای از جمله فولات، ویتامین B۶ و کوآنزیم در تحریک تولید ملاتونین دخیل هستند (۲، ۳). ملاتونین توسط غده پینه آل، شبکیه، دستگاه گوارش، مغز استخوان و ... تولید و توسط غده پینه آل ترشح می گردد. ترشح ملاتونین ممکن است در طی روزهای مختلف و بر حسب شرایط فیزیولوژیک تغییر پیدا کند. بیشترین میزان ترشح هورمون در هنگام شب و در تاریکی کامل رخ می دهد (۲). در واقع ملاتونین مسول تنظیم ساعت بیولوژیک از زمان جنین تا دوران پیری می باشد. غلظت ملاتونین در خون متغیر بوده بطوریکه غلظت آن در طول شبانه روز بین ۱۰ تا ۶۰ پیکوگرم متغیر می باشد. حداکثر میزان ترشح ملاتونین در طول شب و حداقل ترشح آن در طی روز می باشد. بعد از اواسط تاریکی، ملاتونین به سرعت بالا رفته و به یک اوج کوتاه مدت میرسد و بعد از آن، پیش از شروع روشنایی کاهش می یابد تا به مقدار روزانه برگردد. نور مصنوعی با شدت ۲۵۰۰-۲۰۰ لوکس نوری می تواند باعث سرکوب کامل ترشح ملاتونین گردد (۳). از آنجاییکه این هورمون در غده پینه آل ذخیره نمی گردد، بنابراین پروفایل پلاسمایی هورمون بیانگر فعالیت غده پینه آل می باشد. سیکل روشن/ خاموش مهمترین سیستم تنظیمی ترشح ملاتونین می باشد. ساخت ملاتونین تحت تاثیر سن، جنس، فصل و برخی بیماریها متغیر می باشد و با افزایش سن تولید آن کاهش می یابد. میزان این هورمون در زنان سالمند بیشتر از مردان سالمند است. همچنین میزان ساخت آن در انسان در فصل زمستان بیشتر از تابستان می باشد. ملاتونین در بدان دارای

عملکرد گسترده می باشد. این هورمون به عنوان یک عامل محافظتی در برابر بیماریهای مزمن و تحلیل برنده، بیماریهای گوارشی و اختلالات متابولیکی و رفتاری عمل می نماید و در برخی موارد مصرف آن سبب بهبود برخی شرایط بیماری زایی می گردد. در دستگاه گوارش افزایش جریان خون موکوس، کاهش حرکات دودی، پیشگیری از التهاب و زخم های گوارشی از اعمال دیگر این هورمون می باشد (۳، ۴). ملاتونین به طور مستقیم فعالیت تخمدانی را نیز کنترل می نماید. به علاوه موجب تحریک سنتز پروژسترون می گردد. غلظت بالاتر از حد طبیعی ملاتونین می تواند اختلال عملکرد سیستم تولیدمثلی ایجاد کند. اختلالات سیستم تولیدمثلی عبارتند از: تغییر چرخه ی عادت ماهانه، فقدان اسپرم در مردان، تاخیر در بلوغ و یا بلوغ زودرس (۴، ۵). نقش ملاتونین در تنظیم دمای بدن در طی شب نیز شناخته شده است. همچنین بر اساس بررسی های انجام شده ملاتونین سبب کاهش خطر ابتلا به بیماری آترواسکلروز می شود (۳، ۶). در بیماران مبتلا به آلزایمر، مصرف مکمل ملاتونین سبب کاهش حواس پرتی و بهبود حافظه ی آن ها می شود (۷، ۸). حذف رادیکالهای آزاد و اثرات آنتی اکسیدانی و نیز بهبود سیستم ایمنی، از دیگر اثرات عمومی ملاتونین می باشد. نقش ملاتونین به عنوان یک آنتی اکسیدان بسیار مؤثر و خنثی کننده رادیکالهای آزاد به اثبات رسیده است (۹). برخی مطالعات نشان داده اند که ملاتونین قوی تر از ویتامین E، مانیتول، گلوکاتیون برای پاک سازی رادیکالهای آزاد ناشی از اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع است. تجربه نشان داده تزریق ملاتونین در حیوانات مبتلا به ایسکمی سطح MDA (شاخص آسیب استرس اکسیداتیو) را کاهش می دهد. ملاتونین محرک آنزیمهای آنتی اکسیدانی شامل سوپراکسیداز، گلوکاتیون پراکسیداز، گلوکاتیون ردوکتاز و کاتالاز است و نیز مهارکننده ی لیپواکسیژناز می باشد (۱۰، ۱۱). ملاتونین با تثبیت غشاهای میکروزومی، سبب مقاومت در برابر آسیب اکسیداسیونی میشود. بعلاوه جهش ناشی از اشعه X را نیز مهار می نماید (۱۲). خاصیت ایمونومودولاتوری ملاتونین ناشی از مهار COX-۲ و iNOS در سلولهای التهابی می باشد (۱۳). اثرات آنتی آپوپتوتیک ملاتونین بر روی بافت های مختلف در مطالعات مختلف نشان داده شده است. علاوه بر نقش آنتی اکسیدانی و محافظتی این هورمون بر روی بافت تولید مثلی، ملاتونین همچنین در تنظیم ترشح هورمون های جنسی ایفای نقش می نماید (۱۴، ۱۵). تحقیقات نشان داده اند که ملاتونین مانع تولید انواع گونه های فعال اکسیژن و همچنین مانع فرایند لیپید پراکسیداسیون غشای اسپرم شده و بنابراین فاکتورهای مربوط به اسپرم را بهبود می بخشد (۱۶، ۱۷). ملاتونین با خواص آنتی اکسیدانی و آنتی آپوپتوتیک خود (از طریق مهار روند آپوپتوز سلول های زایا) مانع تخریب اسپرماتوژنز شده است (۱۸، ۱۹). استفاده همزمان از ملاتونین و آنتی اکسیدانهای قوی مانند ویتامین E، ویتامین C، گلوکاتیون و ... در مطالعات مختلف صورت پذیرفته است. در مطالعه صورت گرفته توسط Gitto و همکاران، اثرات سینرژیستی محافظتی ملاتونین و دیگر آنتی اکسیدانها در پیشگیری از پراکسیداسیون لیپید ناشی از آهن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که اثرات محافظتی ترکیب ملاتونین به همراه ویتامین C، E و گلوکاتیون نسبت به تجویز این ترکیبات به تنهایی بطور معنی داری بیشتر بود (۲۰). ویتامین E (توکوفرول) یک آنتی اکسیدانت غیر آنزیمی قوی محسوب میشود که قادر است واکنش پراکسیداسیون لیپید را در غشاهای سلولی بوسیله محدود نمودن عمل رادیکالهای آزاد مهار و بدین ترتیب غشاهای سلولی را از آسیب القا شده بوسیله آنها محافظت نماید (۲۱). در دستگاه تناسلی نر، نقش آنتی اکسیدانتی این ویتامین در مهار نمودن اثرات مخرب رادیکالهای آزاد در بیضه (۲۲) و اسپرم (۲۳ و ۲۴) گزارش شده است. علاوه بر این، ویتامین E با قابلیت ذکر شده قادر است سیستم دفاعی آنتی اکسیدانتی سلولهای بیضه و اسپرم را تقویت نماید (۲۵). با توجه به نقش ویتامین E بعنوان یک آنتی اکسیدانت قوی این طور میتوان فرض کرد که این ویتامین قادر باشد اثرات مخرب رادیکال های آزاد را خنثی نماید. در تحقیق حاضر به بررسی تاثیر تجویز ترکیب دو داروی ملاتونین و ویتامین E مقایسه آن با اثرات این داروها به تنهایی، ال کارنیتین و نیز ترکیب ال کارنیتین و ملاتونین در فاکتورهای ناباروری، در مدل ناباروی القاء شده با داروی بوسولفان در موش صحرایی نر، پرداخته خواهد شد.



1. Fisch H. Declining worldwide sperm count: disproving a myth. *Urol Clin North Am.* 2008; 35: 137-146.
2. M. Mila Macchia JNB. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Frontiers in Neuroendocrinology* 2004;25: 177-95.
3. Bruno Claustrat JB, Guy Chazot. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Medicine Reviews* 2005: 24-9-11.
4. تهوگر، هورمون ملاتونین، سوخت و ساز و اثرات بالینی آن. *غدد درون ریز و متابولیسم ایران.* 1392;15(2):23-211.
5. Reiter R. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocr Rev* 1991;12:151.
6. Duell PB WD, Shultz A, Nguyen H,. Inhibition of LDL oxidation by melatonin requires supraphysiologic concentrations. *Clinical Chemistry* 1998;44:1931-6.
7. Wang JZ WZR. Role of melatonin in Alzheimerlike neurodegeneration. *Acta Pharmacol Sin* 2006;27:41-9.
8. Monisha Sharma YKG. Effect of chronic treatment of melatonin on learning, memory and oxidative deficiencies induced by intracerebroventricular streptozotocin in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior.* 2001; 70: 325-31.
9. Russel J. Reiter D-xT, Juan C. Mayo. Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans. *Acta Biochimica Polonica.* 2003;50:1129-46.
10. Czesnikiewicz-Guzik M KS, Loster B, Wisniewska G, Majewski S. Melatonin and its role in oxidative stress related diseases of oral cavity. *J Physiol Pharmacol.* 2007;58 (3): 5-19.
11. Rodriguez C MJ, Sainz RM, Antolín I, Herrera F, Martínez V. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res* 2004;36: 1- 9.
12. Ravindra T LN, Ahuja YR. Melatonin in pathogenesis and therapy of cancer. *Indian J Med Sci.* 2006;60:523-35.
13. Chucharoen P CB, Putthaprasart C et al. The presence of melatonin receptors and inhibitory effect of melatonin on hydrogen peroxide-induced endothelial nitric oxide synthase expression in bovine cerebral blood vessels. *J Pineal Res* 2007;43:35-41.
14. Sara Soleimani Rad SA, Amir Ghorbani Haghjo, Mehzaad Sadagheyani, Azadeh Montaseri, Jafar Soleimani Rad. Serum Levels of Melatonin and Oxidative Stress Markers and Correlation between Them in Infertile Men. *Journal of Caring Sciences.* 2013;2(4): 287-94.
15. Srinivasan V SW, Pandi-Perumal SR, Zakharia R, Bhatnagar KP, Brzezinski A. Melatonin and human reproduction: shedding light on the darkness hormone. *Gynecol Endocrinol* 2009; 25(12):779-85.
16. Gavella M LV. Antioxidative effect of melatonin on human spermatozoa. *Arch Androl* 2000;44(1):23-7.
17. Plessis S HK, Lampiao F. The in vitro effects of melatonin on human sperm function and its scavenging activities on NO and ROS. *Andrologia* 2010;42:112-16.

- Ate??ahin A SE, Türk G, Ceriba?i AO, Yilmaz S, Yüce A. Chemoprotective effect of melatonin against .18
.cisplatin-induced testicular toxicity in rats. J Pineal Res 2006;41(1):21- 7
- Mohamadghasemi F FM, Khajehjahromi S, Bahadori M Nasiri E. Hemadi M. Effect of Melatonin on .19
proliferative activity and apoptosis in spermatogenic cells in mouse under chemotherapy. Journal of
.Reproduction & Contraception. 2010;21(2):79-94
- Gitto E TD, Reiter RJ, Karbownik M, Manchester LC, Cuzzocrea S, Fulia F, Barberi I. Individual and .20
synergistic antioxidative actions of melatonin: studies with vitamin E, vitamin C, glutathione and
.desferrioxamine (desferoxamine) in rat liver homogenates. J Pharm Pharmacol. 2001 53(10):1393-401
- Gurel A, Coskun O, Armutcu F, Kanter M, et al. Vitamin E against oxidative damage caused by .21
formaldehyde in frontal cortex and hippocampus: biochemical and histological studies. J Chem Neuroanat.
.2005; 29: 173-178
- Chandra AK, Chatterjee A, Ghosh R, Sarkar M. Vitamin E-supplementation protect chromium (VI)- .22
induced spermatogenic and steroidogenic disorders in testicular tissues of rats. Food Chem Toxicol. 2010;
.48: 972-979
- Nouri M, Ghasemzadeh A, Farzadi L, Shahnazi V, et al. Vitamins C, E and lipid peroxidation levels in .23
sperm and seminal plasma of asthenoteratozoospermic and normozoospermic men. Iranian J Reproductive
.Medicine. 2008; 6: 1-5
- Latchoumycandane C, Mathur PP. Effects of vitamin E on reactive oxygen species-mediated 2,3,7,8- .24
.tetrachlorodi-benzo-p-dioxin toxicity in rat testis. J Appl Toxicol. 2002; 22: 345-351
- Yue D, Yan L, Luo H, Xu X, et al. Effect of Vitamin E supplementation on semen quality and the .25
testicular cell membranal and mitochondrial antioxidant abilities in Aohan fine-wool sheep. Anim Reprod Sci.
.2010; 218: 222-217
-